

Ueber die Bestimmung und Trennung von Aminosäuren

Inauguraldissertation
der philosophischen Fakultät II der Universität Bern
zur Erlangung der Doktorwürde

vorgelegt von
Guido Stampa
von Stampa (Graubünden)

Von der philosophischen Fakultät II auf Antrag des
Herrn Prof. Dr. Rudolf Signer angenommen.

Bern, den 3. März 1950.

Der Dekan:
sig. **Prof. Dr. F. E. Lehmann**

Gekürzte, von der Fakultät genehmigte Fassung. Mikrofilmkopien der ungekürzten Dissertation sind bei der Stadt- und Hochschulbibliothek Bern erhältlich

INHALTSVERZEICHNIS

Einleitung	1
------------	---

I. Teil

1. DIE QUALITATIVE ANALYSE VON AMINOSAURE-MISCHUNGEN MIT HILFE DER PAPIERCHROMATOGRAPHIE	
1.1 Die Technik der Papierchromatographie	3
1.2 Die Lösungsmittel	6
1.20 Allgemeines	6
1.21 Phenol	7
1.22 Kollidin	10
1.23 n-Propanol	11
1.3 Die Farbreaktionen	
1.31 Allgemeine	13
1.32 Spezielle	14
1.4 Arbeitsvorschrift für eine qualitative Analyse	
1.41 Die Vorbereitung der Lösung	16
1.42 Die Chromatographie	16
2. DIE QUANTITATIVE AUSWERTUNG DER CHROMATOGRAMME	
2.1 Versuche zur Auswertung der Ninhydrin-Reaktion	
2.11 Die Methode	19
2.12 Allgemeines zur Ninhydrin-Reaktion	20
2.13 Die Messung der Farbintensität	21
2.14 Versuche zur Standardisierung der Nin.R.	23
2.15 Versuche mit der Nin.R. nach Moore-Stein	27
2.16 Schlussfolgerungen	30
2.2 Die Retentionsanalyse nach Wieland	
2.21 Die Kupferkomplex-Bildung der Aminosäuren	31
2.22 Das Prinzip der Retentionsanalyse	32
2.23 Spezielle Bedingungen	33
2.24 Eichkurven	41
2.3 Arbeitsgang für die quantitative Analyse	
2.31 Die Vortrennung in Gruppen	46
2.32 Die Bestimmung der einzelnen Aminosäuren	47
2.4 Schlussbetrachtung	57

II. T e i l

3.	VERSUCHE MIT EINER MEMBRAN-APPARATUR FÜR GEGENSTROMEXTRAKTION	
3.1	Theoretisches	
3.11	Verteilungschromatographie und Extraktion	58
3.12	Die Gegenstrom-Extraktion	63
3.2	die Apparatur zur Gegenstrom-Extraktion	
3.21	Die Wirkungsweise	66
3.22	Beschreibung der Apparatur	68
3.3	Versuche	73
3.4	Schlussfolgerungen	79
	Zusammenfassung	81
	Literaturverzeichnis	84



ZUSAMMENFASSUNG

Die Zerlegung eines vielkomponentigen Gemisches durch mehrstufige Dialyse wird am Institut für organische Chemie der Universität Bern seit längerer Zeit anhand von Caseinhydrolysaten untersucht. Um den Aminosäuregehalt der Fraktionen zu erfassen, wurden chromatographische Methoden verwendet. Durch Säulenchromatographie lassen sich die Aminosäuren quantitativ in vier Gruppen zerlegen, wobei in jeder Gruppe der Gesamtstickstoff nach Kjeldahl bestimmt werden kann. Eine Trennung innerhalb der Gruppen gelingt qualitativ sehr gut mit der Methode der Papierchromatographie nach Consden et al. Wir untersuchten in dieser Arbeit die Möglichkeiten, dieses Verfahren auch quantitativ zu gestalten.

Als erstes wurde die kolorimetrische Auswertung der Ninhydrin-Farbreaktion auf dem Papier versucht. Nach neuesten Arbeiten von Moore und Stein kann diese Reaktion in Lösung so standardisiert werden, dass sie photometrisch auswertbar wird. Eine Bestimmung der Aminosäuren direkt auf dem Papier gelang uns aber aus folgenden zwei Gründen nicht:

1. Trotz Anwendung der Bedingungen, wie sie für eine Durchführung der Reaktion in Lösung gegeben werden, war die Farbausbeute nicht reproduzierbar.
2. Wir versuchten eine mittlere Farbstärke der Aminosäureflecken pro Flächeneinheit mit der betreffenden Aminosäuremenge in Beziehung zu bringen. Da aber die Verteilung der Aminosäuren im Fleck stark von der Konzentration und der Zusammensetzung der Mischung bei der Chromatographie abhängig ist, lässt sich eine mittlere Farbintensität nur ungenau bestimmen. Gleiche Werte ergeben sich nur bei parallel geführten Chromatogrammen von Mischungen, die sich in Konzentration und Zusammensetzung nicht stark unterscheiden. Das bedeutet, dass für jedes zu bestimmende Aminosäuregemisch eine neue Reihe von Eichlösungen hergestellt werden muss, die der Analysenlösung möglichst entspricht.

Bessere Ergebnisse als die Ninhydrin-Farbreaktion liefert die Kupfer-Komplexbildung der Aminosäuren in der Form der Retentionsanalyse nach Wieland.

Unsere Versuche mit dieser Methode ergaben Folgendes:

1. Der Einfluss der Feuchtigkeit des Papiers und der Zusammensetzung der Kupferlösung wurde abgeklärt.
2. Es wird die Zusammensetzung einer Kupferlösung in Dioxan/Cyclohexanon angegeben, die sich für eine Bestimmung von Aminosäuremengen von 10 - 50 Gamma eignet.
3. Die Methode zur Ablösung der Aminosäuren vom Chromatogramm wird beschrieben.
4. Die durch Vortrennung an Säulen erhaltenen Gruppen der neutralen, basischen, sauren und aromatischen Aminosäuren können alle mittels eindimensionaler Chromatogramme mit dem Lösungsmittel n-Propanol in einzelne Aminosäuren zerlegt werden. Diese können dann, nach dem Ablösen vom Papier durch die Retentionsanalyse bestimmt werden.
5. Die ersten so bestimmten Werte von Aminosäuremengen künstlicher Mischungen waren erst auf ± 20 % genau. Durch eine Verbesserung der Chromatogramme erscheint es möglich, die Genauigkeit zu steigern.

Im zweiten Teil der Arbeit wird eine präparative Trennung der Aminosäuren, basierend auf dem Prinzip der Verteilungschromatographie beschrieben. Die verwendete Apparatur arbeitet so, dass zwei begrenzt mischbare Flüssigkeiten, durch eine Membran getrennt, in dünnen Schichten aneinander vorbei fließen. Das schwindigkeitsverhältnis der Phasen ist dann bestimmend dafür, bei welchem Verteilungskoeffizienten das Gemisch getrennt wird.

Die ersten orientierenden Versuche mit dieser Apparatur zeigten, dass es auf diese Art möglich sein sollte, eine gleiche Trennschärfe wie in der Papierchromatographie zu erhalten.

LEBENS LAUF

Ich wurde am 17. August 1923 in Bern geboren. Dort besuchte ich die Primarschule und anschliessend das staedtische Progymnasium und Gymnasium. Im Herbst 1942 bestand ich die Maturität Typus A. Im gleichen Jahr immatrikulierte ich mich an der Universität Bern, wo ich Chemie, Physik und Mineralogie studierte.

Im Frühjahr 1948 begann ich im Institut für organische Chemie unter Leitung von Herrn Professor Dr. R. Signer meine Dissertation.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548814_0103

